

## 评述

## 水痘带状疱疹病毒皮层蛋白功能的研究进展

王玮<sup>①</sup>, 程通<sup>①</sup>, 朱桦<sup>②</sup>, 夏宁邵<sup>①\*</sup><sup>①</sup> 厦门大学生命科学学院国家传染病诊断试剂与疫苗工程技术研究中心, 分子疫苗学和分子诊断学国家重点实验室, 厦门 361102;<sup>②</sup> Department of Microbiology and Molecular Genetics, New Jersey Medical School, Rutgers University, Newark NJ 070101, USA

\* 联系人, E-mail: nsxia@xmu.edu.cn

收稿日期: 2015-04-07; 接受日期: 2015-05-20

福建省科技创新平台建设计划项目(批准号: 2014Y2101)和厦门市科技计划项目(批准号: 3502ZZ201410045, 3502ZZ20131001)资助

**摘要** 水痘带状疱疹病毒(VZV)初次感染可引发水痘并可长期潜伏在宿主神经节内, 一旦再激活即可引起带状疱疹。VZV 病毒具有疱疹病毒典型结构, 从内向外依次是 DNA 核心、衣壳、皮层和囊膜。VZV 皮层是核衣壳与囊膜之间一层无固定形状的蛋白层。VZV 皮层由多种蛋白组成, 但种类和功能仍未全部确定。本文综述了目前已发现的 VZV 皮层蛋白在病毒感染过程中发挥的多种作用, 讨论了 VZV 皮层蛋白相关的蛋白-蛋白相互作用及其对病毒在 SCID-hu 人鼠嵌合感染模型中组织趋向性的影响, 这将有助于更好地理解 VZV 皮层蛋白是如何帮助病毒 DNA 复制、逃避宿主免疫反应和致病。

**关键词**水痘带状疱疹病毒  
VZV  
皮层蛋白

水痘带状疱疹病毒(varicella-zoster virus, VZV)属疱疹病毒科 $\alpha$ -疱疹病毒亚科, 在儿童初次感染时可引发水痘, 随后病毒可长期潜伏在脊椎背根神经节或颅神经的感觉神经节中, 潜伏的 VZV 再激活会引发带状疱疹<sup>[1,2]</sup>。VZV 感染有可能会引发严重的并发症, 包括脑脊髓炎和眼结膜炎等, 其中最常见的是带状疱疹后遗神经痛, 这是一种剧烈且难以治愈的疼痛, 严重影响病人的生活质量<sup>[3-6]</sup>。VZV 病毒颗粒同其他疱疹病毒科病毒一样, 由 DNA 核心、衣壳、皮层与囊膜组成(图 1), 其中最内层是包含有 DNA 基因组的核衣壳, 最外层则是来自宿主细胞膜并含有病毒糖蛋白的囊膜, 而两层之间包围着无固定形状的蛋白层——皮层。疱疹病毒皮层蛋白已被证明在病毒感染过程中发挥多种关键作用, 包括病毒颗粒的细胞内运输<sup>[7-16]</sup>、病毒组装与释放<sup>[17-30]</sup>、对病毒或宿主基因转录与表达的调控<sup>[31-43]</sup>以及病毒免疫逃

逸<sup>[41,44-47]</sup>等多方面。

VZV 基因组为双链 DNA, 长度约 125 kb, 至少含有 70 个可读框(open reading frame, ORFs)<sup>[1,48]</sup>。尽管 VZV 基因组在疱疹病毒科中最小, 但是对于 VZV 蛋白功能与致病分子机制的研究明显落后于单纯疱疹病毒 1 型(Herpes simplex virus 1, HSV-1)、伪狂犬病毒(Pseudorabies virus, PRV)等其他疱疹病毒。VZV 皮层包含大量的蛋白, 但是因为 VZV 的细胞结合性强, 很难获得大量高纯度的完整病毒颗粒用于质谱分析, 以至于 VZV 皮层蛋白的种类及其在病毒颗粒内含量尚未确定。目前, 由于 VZV 与 HSV-1 的基因组高度同源, VZV 皮层蛋白的种类与功能主要是基于研究相对清楚的 HSV-1 同源蛋白推测而来(表 1)。近年来, 细菌人工染色体(bacterial artificial chromosome, BAC)技术的发展使人们能更加高效地对 VZV 基因组进行操作, 大大方便了对 VZV 基因及其产物

**引用格式:** 王玮, 程通, 朱桦, 等. 水痘带状疱疹病毒皮层蛋白功能的研究进展. 中国科学: 生命科学, 2015, 45: 623-634

**英文版见:** Wang W, Cheng T, Zhu H, et al. Insights into the function of tegument proteins from the varicella zoster virus. Sci China Life Sci, 2015, 58, in press, doi: 10.1007/s11427-015-4887-3

表1 VZV 推定的皮层蛋白及其功能<sup>a)</sup>

VZV 推定的皮层蛋白	HSV-1 同源蛋白/ 皮层蛋白	细胞培养 <sup>#</sup>	推测的功能*	已确定的功能
ORF3	UL55	非必需	对病毒基因表达具有潜在的负调节作用 <sup>[31]</sup>	尚未确定
ORF7 <sup>φ</sup>	UL51	非必需	影响病毒颗粒成熟、释出与细胞间扩散 <sup>[25]</sup>	影响病毒的细胞间扩散 <sup>[107]</sup>
ORF8	UL50	非必需	尿嘧啶脱氧核糖核苷三磷酸酶	尿嘧啶脱氧核糖核苷三磷酸酶
ORF9 <sup>‡</sup>	UL49	必需	影响病毒早期感染时期的蛋白合成与 mRNA 积累 <sup>[37]</sup> ，稳定细胞微管 <sup>[126]</sup> ；在病毒包装与转录调控上具有潜在作用 <sup>[24,32]</sup>	影响病毒离开细胞核和二次包膜 <sup>[83,84]</sup>
ORF10 <sup>φ</sup>	UL48	非必需	α基因的反式诱导因子，对病毒立即早期基因表达的反式激活功能 <sup>[33,34]</sup> ；影响病毒颗粒成熟与释出 <sup>[23]</sup>	对病毒立即早期基因表达具有反式激活功能 <sup>[85,86]</sup>
ORF11 <sup>‡</sup>	UL47	非必需	影响病毒基因表达 <sup>[35]</sup> ；病毒颗粒成熟与释出 <sup>[28]</sup>	具有 RNA 结合能力，影响感染早期病毒蛋白合成 <sup>[76]</sup>
ORF12 <sup>‡</sup>	UL46	非必需	影响病毒基因表达 <sup>[35]</sup> ；激活 Akt 信号通路 <sup>[36]</sup> ，在病毒皮层包装中可能发挥作用 <sup>[30]</sup>	激活 Akt 信号通路 <sup>[90]</sup> ；影响 ERK1/2 磷酸化并抑制细胞凋亡 <sup>[77]</sup>
ORF17 <sup>o</sup>	UL41	必需	病毒宿主关闭蛋白	病毒宿主关闭蛋白
ORF21	UL37	必需	内皮层蛋白，影响病毒核衣壳的细胞核传递 <sup>[9]</sup> ；影响病毒颗粒成熟与释出 <sup>[26]</sup> ；激活细胞 NF-κB 信号通路 <sup>[44]</sup>	尚未确定
ORF22	UL36	必需	内皮层蛋白，影响病毒核衣壳的细胞核传递 <sup>[9]</sup> ；影响病毒颗粒成熟与释出 <sup>[27]</sup> ；废除细胞 IFN-β产生 <sup>[45]</sup>	尚未确定
ORF36	UL23	非必需	胸苷酸激酶	胸苷酸激酶
ORF38	UL21	必需	影响病毒早期感染时期的蛋白合成 <sup>[38]</sup> ，可能影响病毒颗粒运输 <sup>[13]</sup>	尚未确定
ORF44	UL16	必需	可能影响病毒颗粒的成熟组装 <sup>[29]</sup>	影响具有感染活性的成熟病毒的生产 <sup>[110]</sup>
ORF46	UL14	必需	次要皮层蛋白 <sup>[9]</sup> ；类伴侣蛋白活性 <sup>[127]</sup> ；影响病毒核衣壳的细胞核传递 <sup>[14]</sup>	尚未确定
ORF47 <sup>φ</sup>	UL13	非必需	丝氨酸/苏氨酸激酶，参与病毒免疫逃逸 <sup>[47]</sup>	丝氨酸/苏氨酸激酶，参与病毒免疫逃逸 <sup>[102]</sup>
ORF49 <sup>φ</sup>	UL11	非必需	肉豆蔻酰基化和棕榈酰化病毒蛋白，影响病毒颗粒成熟与释出 <sup>[22]</sup>	肉豆蔻酰基化蛋白，影响具有感染活性成熟病毒的生产 <sup>[110]</sup>
ORF53	UL7	必需	棕榈酰化病毒蛋白，可能影响宿主线粒体功能 <sup>[128]</sup>	尚未确定
ORF61 <sup>o</sup>	ICP0	必需	病毒反式激活因子，具有泛素连接酶 E3 的活性，参与病毒免疫逃逸 <sup>[41]</sup>	病毒反式激活因子，具有泛素连接酶 E3 的活性 <sup>[129]</sup> ；参与病毒免疫逃逸 <sup>[130,131]</sup>
ORF66 <sup>φ</sup>	US3	非必需	内皮层蛋白 <sup>[9]</sup> ；丝氨酸/苏氨酸激酶，影响病毒颗粒出核 <sup>[19-21]</sup> ；介导肌动蛋白重排 <sup>[132,133]</sup> ；参与基因表达调控 <sup>[42]</sup> ；抑制细胞凋亡 <sup>[39,40]</sup> ；参与病毒免疫逃逸 <sup>[46]</sup>	丝氨酸/苏氨酸激酶，通过下调细胞表面 MHC-I 表达，参与病毒免疫逃逸 <sup>[106]</sup>
ORF62/71 <sup>‡</sup>	ICP4	必需	主要病毒反式激活因子，对病毒立即早期基因转录有抑制作用 <sup>[43]</sup>	主要病毒反式激活因子，对病毒立即早期基因转录有抑制作用，通过抑制 IRF3 激活影响 IFN 产生 <sup>[60]</sup>
ORF64/69	US10	非必需	尚未确定	尚未确定

a) \*: VZV 推定皮层蛋白的功能主要是基于 HSV-1 同源蛋白的性质推测而来；#: 应用基因敲除 VZV 突变株确定 VZV 推定皮层蛋白在病毒体外细胞培养中的功能；o: 该蛋白已被证明并非 VZV 颗粒组分；φ: 该蛋白已被证明属于 VZV 颗粒组分，但仍未确定为皮层蛋白；‡: 该蛋白已被证明属于 VZV 皮层蛋白

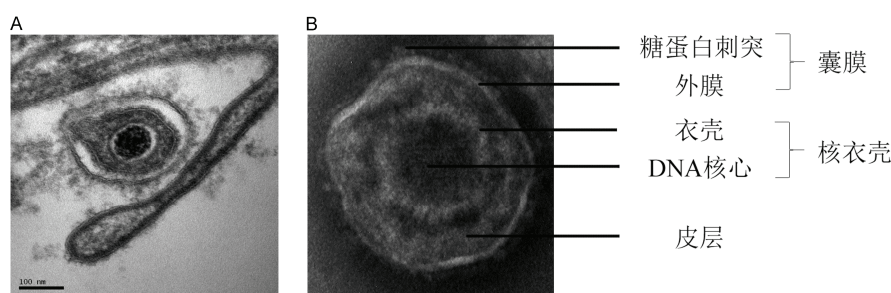


图 1 VZV 的电子显微照片

A: 释出细胞的 VZV 颗粒(放大倍数 30000 $\times$ ); B: VZV 的组成结构

功能、病毒与宿主间相互作用关系的研究,并且有助于抗病毒策略开发和新型 VZV 疫苗研制等<sup>[49-51]</sup>。另外, SCID-hu 人鼠嵌合模型的发展,克服了因 VZV 具有高度的种属特异性而缺少动物模型的困难,因此有助于 VZV 致病机制的体内实验研究<sup>[50,51]</sup>。目前的研究已经表明, VZV 皮层蛋白同样在 VZV 感染过程中发挥重要作用,本文对 VZV 皮层蛋白功能的研究进展及其对 VZV 致病分子机制的启示进行了综述。

## 1 VZV 皮层中的立即早期蛋白

VZV 基因组编码了至少 3 种立即早期蛋白(immediate early protein, IE protein), 包含 IE4(由 *orf4* 编码), IE62(由 *orf62* 和 *orf71* 编码)和 IE63(由 *orf63* 和 *orf70* 编码)。 *Orf62* 和 *orf63* 在 VZV 基因组的内部重复序列区和末端重复序列区分别重复一次, 对应为 *orf71* 和 *orf70*<sup>[48]</sup>。在对纯化的 VZV 颗粒进行蛋白组分分析时发现, IE4, IE62 与 IE63 均属 VZV 颗粒组分, 并很可能位于皮层<sup>[52,53]</sup>。另外, 虽然 VZV 编码的 ORF61 蛋白与 HSV-1 立即早期蛋白 ICP0 属同源蛋白, 并因此推测 ORF61 也是 VZV 立即早期蛋白, 但是经鉴定 ORF61 并非 VZV 颗粒组分<sup>[52]</sup>。

VZV 立即早期蛋白之间以及与其他病毒或宿主因子之间能相互影响, 并在病毒与宿主的基因转录与表达调控上发挥极其重要的作用<sup>[54-59]</sup>。此外, VZV 立即早期蛋白还具有辅助 VZV 免疫逃逸的功能。例如, IE62 能通过拮抗干扰素调节因子 3(interferon response factor 3, IRF3)的激活来调节宿主的固有免疫信号通路<sup>[60]</sup>; IE63 能通过阻止真核起始因子 2(eukaryotic initiation factor 2, eIF-2)  $\alpha$ 亚基的磷酸化有效抑制  $\alpha$ -干扰素(interferon- $\alpha$ , IFN- $\alpha$ )的抗病毒作

用<sup>[61]</sup>。因此, 当 VZV 进入细胞时, 皮层中的这些立即早期蛋白很可能释放到细胞质以及细胞核并马上发挥作用, 激活病毒基因转录与表达并抑制宿主细胞的免疫反应, 从而促进 VZV 的有效复制与细胞间扩散。

早先对 VZV 在神经系统中潜伏与激活机制的研究中发现, 立即早期蛋白 IE4, IE62 与 IE63 能够在 VZV 潜伏感染的神经细胞内表达并且主要分布在细胞质内<sup>[62-64]</sup>。这与 IE62 和 IE63 在 VZV 裂解性感染时的细胞核分布迥然不同, 因此推测这些立即早期蛋白可能在 VZV 潜伏期间由于某种原因与细胞核隔离, 限制了它们对基因的反式激活功能并影响 VZV 自身复制<sup>[64]</sup>。另外, 在用棉鼠(*Sigmodon hispidus*)做 VZV 潜伏感染模型的研究中还发现, IE4 与 IE63 对 VZV 潜伏感染的成功建立必不可少<sup>[65,66]</sup>。然而, 目前对 VZV 立即早期蛋白在潜伏时期表达的作用仍然不清楚。

*Orf4*, *orf62/orf71* 与 *orf63/orf70* 分别敲除后, VZV 将无法在体外培养的细胞、离体培养的人皮肤器官(skin organ culture, SOC)和移植到 SCID 小鼠(*Mus musculus*)体内的人皮肤组织中复制, 因此它们属于 VZV 生长的必需基因<sup>[57,58,67,68]</sup>。VZV 的复制需要至少一个拷贝的 *IE62* 或 *IE63* 基因<sup>[57,68]</sup>。然而, 在 *orf62/orf71* 基因敲除的 VZV 突变株基因组内单拷贝异位表达 *IE62* 时, 病毒虽然能够在体外培养细胞内复制, 但却无法恢复对移植到 SCID 小鼠中的人皮肤的感染能力, 这表明 *orf62* 和/或 *orf71* 天然的基因位置处存在可能影响邻近基因功能的调控区域<sup>[57]</sup>。另外, 研究发现野生型 VZV Oka 株(P-Oka)的 *IE62* 比 VZV 疫苗 Oka 株(V-Oka)的 *IE62* 有更强的反式激活活性, 这是由于 VZV 疫苗 Oka 株的 *orf62* 发生了多

处突变,而这可能有助于 VZV 疫苗株的皮肤减毒<sup>[69-72]</sup>。总的看来,*orf62* 基因序列、基因位置及基因产物均在 VZV 皮肤感染中起决定性作用。相比之下,单拷贝异位表达 IE63 却能使 *orf63/orf70* 基因敲除的 VZV 突变株恢复对人皮肤与人 T 细胞的感染能力<sup>[68]</sup>。因此,在 VZV 致病过程中发挥作用的是 *orf63* 的基因产物而不是 *orf63* 天然位点的基因序列。以确定 IE63 功能性结构域为目的的进一步研究发现,当 IE63 第 165 位或第 173 位丝氨酸磷酸化位点突变为丙氨酸时,VZV 将丧失感染能力;另一方面,IE63 其他磷酸化位点——第 181 位或第 185 位或第 171 位苏氨酸突变为丙氨酸后,VZV 在体外培养细胞与体内人皮肤中的感染能力均明显减弱,但这些突变并不影响 VZV 在人 T 细胞中的感染能力<sup>[73]</sup>。这些数据表明,IE63 在 VZV 皮肤感染过程中发挥作用需要依赖细胞或病毒激酶的磷酸化,但 IE63 磷酸化和其功能的调节机制仍有待确定。

## 2 VZV 保守基因簇 *orf9* 至 *orf12*

VZV 基因组前端独特长区段(unique long region, ULR)中存在一段保守基因簇,包含 *orf9*, *orf10*, *orf11* 和 *orf12*<sup>[74]</sup>。该基因簇在 HSV-1 中的同源基因所编码的病毒蛋白均属于 HSV-1 皮层蛋白,并对病毒复制十分重要<sup>[75]</sup>。因此,VZV *orf9* 至 *orf12* 基因簇所编码的蛋白均推测为 VZV 皮层蛋白。目前,ORF10 已被证明属于 VZV 颗粒组分<sup>[53]</sup>,而 ORF9, ORF11 与 ORF12 则通过免疫电镜胶体金标记技术,证明了其在病毒颗粒的皮层定位<sup>[74,76,77]</sup>。

*Orf9* 是 VZV 感染过程中转录量最大的病毒结构蛋白基因<sup>[78,79]</sup>,并且是 VZV 体内和体外生长的必需基因<sup>[67,74]</sup>。然而,在 HSV-1 和 PRV 中,*orf9* 的同源基因对于病毒生长却可有可无<sup>[80,81]</sup>。因此 *orf9* 很可能在 VZV 感染过程中发挥了与这些同源基因不同的重要作用。目前已报道 VZV ORF9 具有多种功能,其中包括:(i) ORF9 与 IE62,  $\beta$ -tubulin 存在相互作用,因此推测 ORF9 可能通过细胞微管网络,参与募集 IE62 以及其他皮层蛋白(如 IE4, IE63 和 ORF47)包装进入病毒颗粒的过程<sup>[82]</sup>;(ii) ORF9 与病毒囊膜蛋白 gE(glycoprotein E)存在相互作用,但是 gE 并不参与 ORF9-IE62-tubulin 复合体,因此推测 ORF9 与 gE 的相互作用可能影响病毒成熟组装<sup>[74]</sup>;(iii) ORF9 是

VZV 病毒激酶蛋白 ORF47 的底物,ORF9 及其磷酸化对 VZV 病毒成熟组装与释出细胞起到关键作用<sup>[83]</sup>。据最新报道,敲除 ORF9 上一小段酸性区域(氨基酸 85~93 位,包含 ORF47 磷酸化位点),可破坏 ORF47 与 ORF9 的相互作用和 ORF9 磷酸化,并导致 2 种蛋白的细胞核积累,更重要的是会造成 VZV 颗粒在细胞核初次包膜后出现去囊膜缺陷,导致大量 VZV 颗粒积累在核周间隙<sup>[84]</sup>。因此,ORF9 似乎对病毒释放出细胞核也有调节作用。

ORF10 已被证明具有反式激活 VZV 立即早期蛋白 IE62 启动子的能力,对 VZV 的有效感染起重要作用<sup>[85,86]</sup>。*Orf10* 是 VZV 在体外培养细胞中生长的非必需基因。在 SCID-hu 人鼠嵌合模型中,*orf10* 敲除不影响 VZV 感染 T 细胞,但是会使 VZV 感染人皮肤的能力受损<sup>[67,87]</sup>。另外,目前已确定细胞转录因子——上游刺激因子(upstream stimulatory factor, USF)能够特异性结合 *orf10* 启动子中的共有序列,并协同 IE62 的反式激活作用来影响 VZV 复制。敲除 *orf10* 启动子中 USF 结合位点会使 VZV 在人体皮肤中的感染能力受损,这与 *orf10* 全基因敲除 VZV 突变株的表型一致<sup>[88]</sup>。因此,USF 是 VZV 在体内感染人皮肤所必需的、细胞自身的毒力因子。总之,ORF10 参与了由 VZV 立即早期蛋白 IE62 与细胞转录因子 USF 共同介导的基因转录与表达调控,是 VZV 体内感染人皮肤的决定因子之一。

与 *orf10* 相似,*orf11* 是 VZV 在体外培养细胞中生长的非必需基因,但是在 SCID-hu 人鼠嵌合模型中 *orf11* 敲除的 VZV 在人皮肤中的感染能力严重受损,因此 ORF11 同样是 VZV 皮肤感染的毒力因子之一<sup>[74]</sup>。通过对 ORF11 的蛋白性质鉴定发现,ORF11 是一个 RNA 结合蛋白,具有保守的 RNA 结合区域,但是这个 RNA 结合区域的敲除并不影响 VZV 在体内与体外的毒力<sup>[76]</sup>。最新研究表明,ORF11 与 ORF9 存在相互作用,并且当突变 ORF11 与 ORF9 的结合区域后,VZV 在体内人皮肤感染中出现与 *orf11* 全基因敲除 VZV 突变株相似的生长缺陷<sup>[89]</sup>。这项实验结果显示,ORF11 与 ORF9 之间的相互作用很可能是 ORF11 影响 VZV 的皮肤致病性的关键。

*Orf12* 是 VZV 在体内与体外生长的非必需基因<sup>[67,74]</sup>,但是 ORF12 仍然对 VZV 感染与复制有一定的促进作用。例如,ORF12 能激活细胞 PI3K/Akt/GSK-3 $\beta$  信号通路,调节宿主细胞生活周期进程<sup>[90]</sup>;

ORF12 还能激活 ERK1/2 和 p38, 抑制感染细胞凋亡<sup>[77]</sup>. 综上所述, *orf9* 至 *orf12* 基因簇对 VZV 生长与复制有重要作用, 其中除 *orf9* 是 VZV 体内与体外生长的必需基因外, *orf10* 和 *orf11* 均是 VZV 在体外细胞生长的非必需基因, 但 ORF10 和 ORF11 均属于 VZV 在体内皮肤生长的重要毒力因子. 进一步实验表明, USF 对 *orf10* 启动子的结合、ORF9 与 ORF11 之间的相互作用均属于 VZV 皮肤致病机制的参与部分. 另一方面, 虽然 *orf12* 对 VZV 的体内与体外生长是非必需的, 但 ORF12 能够激活多种细胞信号通路来促进 VZV 感染.

### 3 VZV 丝氨酸/苏氨酸激酶 ORF47 与 ORF66

VZV 含有两类丝氨酸/苏氨酸激酶, 分别是 ORF47 和 ORF66<sup>[91]</sup>. 2 种蛋白均是 VZV 颗粒组分, 并根据其在  $\alpha$  疱疹病毒亚科的同源蛋白性质推测为 VZV 皮层蛋白<sup>[75,92,93]</sup>. *Orf47* 与 *orf66* 均属于 VZV 在体外培养细胞中生长的非必需基因, 但是在 SCID-hu 人鼠嵌合模型中, *orf47* 敲除使 VZV 无法感染人皮肤与 T 细胞, *orf66* 敲除则对 VZV 皮肤感染几乎无影响, 但是会造成 VZV 的 T 细胞感染缺陷<sup>[94-96]</sup>. 另外, 当 ORF47 与 ORF66 的激酶功能区域突变后, VZV 在体内感染实验中显示出与全基因敲除相似的表型<sup>[97,98]</sup>. 因此 ORF47 与 ORF66 所介导的病毒毒力和组织趋向性与其激酶活性密切相关.

目前, 已报道的 ORF47 能磷酸化的 VZV 皮层蛋白包括 ORF9, IE62 和 IE63<sup>[83,99]</sup>. 如上所述, ORF47 对 ORF9 与 IE63 的磷酸化对 VZV 复制具有至关重要的作用<sup>[73,83,84]</sup>. 另一方面, 虽然 ORF47 激酶功能对 VZV 皮肤感染十分重要, 但是进一步研究表明 ORF47 与 IE62 之间的相互作用与复合体形成对 VZV 体内感染人皮肤则是必不可少的<sup>[97,100]</sup>. ORF47 还能磷酸化囊膜蛋白 gE<sup>[101]</sup>. 当 *orf47* 敲除以后, gE 蛋白会转而被细胞内激酶 CK II (casein kinase II) 磷酸化、失去顺式高尔基网状系统(trans-Golgi network, TGN)定位并直接运输到细胞膜上, 导致更快的病毒细胞间扩散和更大的合胞体形成. 另外, ORF47 还能通过抑制干扰素调节因子 3(IRF3)的激活, 帮助 VZV 免疫逃逸<sup>[102]</sup>.

ORF66 可以磷酸化主要立即早期蛋白 IE62. 在 VZV 感染宿主细胞晚期, ORF66 会通过磷酸化 IE62,

导致 IE62 的出核与细胞质积累<sup>[103,104]</sup>. 然而, ORF47 磷酸化并不影响 IE62 的细胞核定位<sup>[104]</sup>. 因此, 该研究成果提示, VZV ORF66 激酶能通过影响 IE62 亚细胞定位来调节其在细胞核内发挥的功能. ORF66 与 IE62 一样能够在潜伏感染的神经细胞中表达并主要分布在细胞质内, 因此推测 ORF66 可能通过影响 IE62 进入细胞核发挥反式激活作用而帮助 VZV 在神经系统保持潜伏状态<sup>[105]</sup>. 另外, ORF66 磷酸化导致 IE62 的细胞质分布是 IE62 作为皮层蛋白包装进入 VZV 颗粒所必需的<sup>[93]</sup>. 而且, ORF66 还参与了 VZV 免疫逃逸: ORF66 可通过影响主要组织相容性复合分子 I 型(major histocompatibility complex class I, MHC-1)经高尔基体的胞内运输, 导致细胞表面的 MHC-1 表达量下调从而影响病毒抗原呈递<sup>[106]</sup>.

### 4 VZV 首个确定的神经趋向性因子——ORF7

ORF7 已证明属于 VZV 颗粒组分, 并根据其在 HSV-1 的同源蛋白 UL51 的性质推测为 VZV 皮层蛋白<sup>[75,107]</sup>. 与 HSV-1 *ul51* 基因相似, *orf7* 是 VZV 体外细胞培养的非必需基因. 然而, ORF7 对 VZV 体外生长的影响与培养细胞的类型有关. 一方面, *orf7* 敲除对 VZV 在人黑色素瘤细胞系 MeWo 中的生长无影响; 另一方面, 与野生型 VZV 相比, *orf7* 敲除的 VZV 突变株在人二倍体细胞、人视网膜色素上皮细胞系 ARPE-19 中产生的病毒空斑更小并且生长更慢, 表现出细胞间扩散缺陷<sup>[67,107]</sup>. 而且, *orf7* 敲除使 VZV 在离体培养的人皮肤组织中的毒力受损, 因此 ORF7 也被确认为 VZV 皮肤感染所必需的毒力因子之一<sup>[67]</sup>. 进一步的研究还发现, *orf7* 敲除后的 VZV 在体外诱导分化的人神经母瘤细胞系 SH-SY5Y、人胚胎干细胞(human embryonic stem cells, hESC)衍生的人正常神经元和移植在 SCID-hu 人鼠嵌合模型中的人背根神经节组织(dorsal root ganglia, DRG)内均存在严重的生长缺陷, 因此 ORF7 成为首个报道的影响 VZV 神经趋向性的决定因子<sup>[107]</sup>. 随后, 研究者在人胚胎干细胞诱导获得的人神经元中评价了 *orf7* 敲除对 VZV 轴突逆行运输的影响, 实验结果显示, *orf7* 敲除并不影响 VZV 感染神经细胞及其病毒颗粒沿轴突向神经元胞体细胞核的逆行运输<sup>[108]</sup>. 然而该实验并没有对 VZV 感染人神经元后病毒的基因转录与蛋白表达水

平进行评价,从而无法判断 *orf7* 敲除的 VZV 突变株在感染人神经元后是否发生潜伏或者开始复制并产生新的病毒颗粒。总之,虽然 ORF7 是 VZV 在体内感染人皮肤和 DRG 的毒力决定因子,但其中的分子机制还有待深入研究。

## 5 VZV ORF44 与 ORF49 蛋白

ORF44 与 ORF49 根据其在 HSV-1 同源蛋白性质均推测为 VZV 皮层蛋白<sup>[75]</sup>。目前已证明 ORF49 属于 VZV 颗粒组分,而 ORF44 仍未确定<sup>[109]</sup>。与 *orf7* 一样, *orf49* 是 VZV 生长的非必需基因,并且对 VZV 体外生长的影响也与培养细胞的类型有关。*Orf49* 敲除后的 VZV 在 MeWo 细胞中有生长缺陷,而在人二倍体细胞、人胚肺成纤维细胞系 MRC-5 中与野生型 VZV 表型一致,也因此 ORF49 被鉴定为 VZV 体外培养中的细胞趋向因子之一,但其中的机制仍不清楚<sup>[109]</sup>。而且, *orf49* 敲除后 VZV 在离体培养的人皮肤组织中存在生长缺陷,因此 ORF49 也是 VZV 皮肤感染的毒力因子之一<sup>[67]</sup>。另一方面, *orf44* 属于 VZV 生长的必需基因<sup>[67]</sup>,但 ORF44 的蛋白性质与功能目前尚未报道。

最新研究显示, ORF44 与 ORF49 存在相互作用,并且已经确认 ORF44 的第 129 位苯丙氨酸以及 ORF49 C 端第 41~44 位氨基酸是 ORF44 与 ORF49 相互作用的基本序列。而且体外实验证明, ORF44 与 ORF49 的相互作用对 VZV 在体外培养细胞中的生长是必需的<sup>[110]</sup>。一方面,当 ORF44 第 129 位苯丙氨酸突变为丙氨酸时会直接导致 VZV 在 MeWo 细胞中无法生长,与 *orf44* 全基因敲除的 VZV 毒株表型相同;另一方面, ORF49 第 41~44 位氨基酸突变后的 VZV 在 MeWo 细胞中有生长缺陷,与 *orf49* 全基因敲除的 VZV 毒株表型相同。然而目前 ORF49 的突变毒株尚未在 SCID-hu 人鼠嵌合模型中做不同组织的感染评价,因此 ORF44 与 ORF49 相互作用是否影响 VZV 在体内的感染能力还有待阐明。

## 6 VZV 其他皮层蛋白作用

根据 HSV-1 皮层蛋白的同源性推测, VZV 的皮层蛋白还包括 ORF3, ORF8, ORF17, ORF21, ORF22, ORF36, ORF38, ORF46, ORF53 和 ORF64/69, 这些蛋白中仅宿主关闭蛋白 ORF17 已被证明并

非 VZV 颗粒组分<sup>[75,111]</sup>。虽然已证明这些蛋白在 HSV-1 中的同源蛋白对 HSV-1 的复制和生长十分重要<sup>[9,13,14,26,27,31,38,44,45,127,128]</sup>,但目前为止,它们本身在 VZV 感染过程中的功能研究还十分欠缺。通过对体外 MeWo 细胞和离体人皮肤组织进行不同单基因敲除的 VZV 突变株的综合性生长特征分析发现, ORF3, ORF8, ORF36 和 ORF64/69 对 VZV 生长无影响,而 ORF21, ORF22, ORF38 与 ORF53 则对 VZV 生长是必需的<sup>[67]</sup>。

## 7 总结与展望

VZV 皮层蛋白同其他疱疹病毒的皮层蛋白一样在病毒感染过程的不同阶段都发挥重要的作用,影响包括病毒入胞后基因表达调控、免疫逃逸以及病毒组装与出胞等多个方面(表 1)。VZV 皮层蛋白涉及复杂的蛋白-蛋白相互作用网络<sup>[112,113]</sup>,并且部分皮层蛋白已被证明属于 VZV 毒力和组织趋向性的决定因子(表 2)。但是迄今,很多 VZV 皮层蛋白的具体功能及其作用机制仍然不明,仅 1/2 左右的 VZV 皮层蛋白功能被研究报道,仍需很大的努力去确定这些蛋白质的功能,从而提高人们对 VZV 发病机制的认识。

由于 VZV 与 HSV-1 的高度同源性, VZV 皮层蛋白功能研究的方法往往可以借鉴 HSV-1 研究中的实验设计与研究体系,例如,可以用 VZV 感染由人胚胎干细胞诱导获得的人神经元,结合时间推移荧光显微镜图像自动化分析技术(time-lapse fluorescence microscopy),研究 VZV 皮层蛋白对病毒感染神经以及病毒在神经轴突中运输动力学的影响。类似的系统已经用于 HSV-1 和 PRV 皮层蛋白在病毒逆向轴突运输中的功能研究<sup>[8,15,16]</sup>,而 VZV 皮层蛋白 ORF7 也作为首个 VZV 病毒蛋白被报道用于 VZV 轴突逆向运输中的功能评价<sup>[108]</sup>。另一方面,考虑到 VZV 的细胞结合性以及对人的高度种属特异性, VZV 皮层蛋白功能的研究也具有其异于 HSV-1 的特殊性和困难性。近年来,人们一直关注疱疹病毒皮层蛋白是如何包装进入病毒颗粒的,虽然从电子显微镜下观察到的疱疹病毒皮层没有固定形状,并且由于皮层的蛋白组成结构的非对称性而无法应用冷冻电子断层成像(cryo-electron tomography, cryo-ET)和冷冻电子显微镜(cryo-electron microscopy, cryoEM)技术对疱疹病毒颗粒的皮层做高分辨率的结构解析<sup>[114~118]</sup>,但是已



表 2 通过 SCID-hu 人鼠嵌合模型确定的影响 VZV 组织趋向性的皮层蛋白及其功能区域<sup>a)</sup>

蛋白名称	突变描述	皮肤*	T 细胞*	DRG*
ORF7	基因敲除	×	O <sup>‡</sup>	×
ORF10	基因敲除	×	O	—
	USF 结合位点突变	×	—	—
ORF11	基因敲除	×	—	—
	与 ORF9 相互作用位点突变	×	—	—
ORF47	基因敲除	×	×	—
	激酶基序突变	×	×	—
ORF49	基因敲除	×	—	—
ORF66	基因敲除	O	×	—
	激酶基序突变	O	×	—
ORF62/ORF71	基因敲除后异位表达	×	—	—
ORF63/ORF70	磷酸化位点 S181, S185 或 T171 突变	×	O	—

a) \*: 应用改造的重组 VZV 突变株攻毒 SCID-hu 人鼠嵌合模型筛选出 VZV 在人体组织的毒力决定因子; ‡: 本实验室未发表结果; ×: 不感染或者感染缺陷; O: 无影响; —: 尚未确定

有越来越多的证据认为疱疹病毒皮层蛋白并非随机地、无序地包装进入病毒颗粒<sup>[18,119–124]</sup>。另外,在研究 HSV-1, PRV 等疱疹病毒的皮层蛋白与细胞骨架的相互作用中发现,与核衣壳结合的内皮层蛋白对病毒颗粒在细胞内的有效运输十分关键<sup>[9,11]</sup>。这些研究往往需要纯化大量游离的病毒颗粒,而这对于 VZV 目前还很难办到,因此 VZV 皮层的结构、蛋白组成以及病毒颗粒与宿主细胞的相互作用还有待研究。

目前,应用 BAC 技术改造 VZV 并结合 SCID-hu 人鼠嵌合感染模型已经显著提高了人们对 VZV 在体内致病机制的认识。由于人皮肤组织获得相对容易并且皮下移植简单,VZV 不同基因及其产物在病毒皮肤感染中的功能研究还较为深入与全面。相比之下,人胸腺与 DRG 组织则因为来源少、质量要求高以及小鼠肾囊移植手术较难而未得到广泛使用。并且,人皮肤组织在移植 SCID 小鼠后 10 天左右便可用于攻毒,而人 DRG 与胸腺(T 细胞)组织在移植后分别需要大约 1 个月和 3 个月才能用于攻毒。迄今为止,

在 VZV 皮层蛋白中仅证明 2 种重要病毒激酶 ORF47 和 ORF66 会影响 VZV 的 T 细胞趋向性,而 ORF7 则是首个被报道的影响 VZV 神经感染的毒力因子<sup>[94,107]</sup>。因此,VZV 皮层蛋白在病毒 T 细胞与神经感染中的功能还需进一步研究。

VZV 皮层蛋白对 VZV 感染如此重要,具有成为 VZV 抗病毒治疗药物靶点的巨大潜力。另一方面,虽然一些 VZV 皮层蛋白对 VZV 体外细胞培养并非必需,但是它们却是 VZV 体内感染重要的毒力与组织趋向性决定因子,例如,orf7 敲除的 VZV 在人皮肤和感觉神经元细胞中均有严重的生长缺陷,将丧失引发水痘及带状疱疹的能力<sup>[67,107]</sup>。目前已投入使用的水痘疫苗或带状疱疹疫苗都是 VZV(Oka 株)减毒活疫苗,这些疫苗大致上安全且保护效果良好,但是 VZV 疫苗株的减毒机制仍然不清楚<sup>[125]</sup>。因此以 VZV BAC 为基础,以 VZV 毒力决定因子为靶点改造病毒,制备遗传背景清楚且更安全的新一代 VZV 疫苗将具有非常重大的公共卫生意义。

## 参考文献

- Cohen J I, Straus S E, Arvin A M. Fields Virology. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007. 2773–2818
- Gilden D H, Kleinschmidt-DeMasters B K, LaGuardia J J, et al. Neurologic complications of the reactivation of varicella-zoster virus. N Engl J Med, 2000, 342: 635–645
- Lukas K, Edte A, Bertrand I. The impact of herpes zoster and post-herpetic neuralgia on quality of life: patient-reported outcomes in six european countries. Z Gesundh Wiss, 2012, 20: 441–451
- Weinke T, Edte A, Schmitt S, et al. Impact of herpes zoster and post-herpetic neuralgia on patients' quality of life: a patient-reported outcomes survey. Z Gesundh Wiss, 2010, 18: 367–374
- Johnson R W, Bouhassira D, Kassianos G, et al. The impact of herpes zoster and post-herpetic neuralgia on quality-of-life. BMC Med,

- 2010, 8: 37
- 6 Drolet M, Brisson M, Schmader K E, et al. The impact of herpes zoster and postherpetic neuralgia on health-related quality of life: a prospective study. *CMAJ*, 2010, 182: 1731–1736
- 7 Granzow H, Klupp B G, Mettenleiter T C. Entry of pseudorabies virus: an immunogold-labeling study. *J Virol*, 2005, 79: 3200–3205
- 8 Luxton G W, Haverlock S, Collier K E, et al. Targeting of herpesvirus capsid transport in axons is coupled to association with specific sets of tegument proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 5832–5837
- 9 Radtke K, Kienek D, Wolfstein A, et al. Plus- and minus-end directed microtubule motors bind simultaneously to herpes simplex virus capsids using different inner tegument structures. *PLoS Pathog*, 2010, 6: e1000991
- 10 Sandbaumhuter M, Dohner K, Schipke J, et al. Cytosolic herpes simplex virus capsids not only require binding inner tegument protein pUL36 but also pUL37 for active transport prior to secondary envelopment. *Cell Microbiol*, 2013, 15: 248–269
- 11 Wolfstein A, Nagel C H, Radtke K, et al. The inner tegument promotes herpes simplex virus capsid motility along microtubules *in vitro*. *Traffic*, 2006, 7: 227–237
- 12 Collier K E, Smith G A. Two viral kinases are required for sustained long distance axon transport of a neuroinvasive herpesvirus. *Traffic*, 2008, 9: 1458–1470
- 13 Takakuwa H, Goshima F, Koshizuka T, et al. Herpes simplex virus encodes a virion-associated protein which promotes long cellular processes in over-expressing cells. *Genes Cells*, 2001, 6: 955–966
- 14 Yamauchi Y, Kiriya K, Kubota N, et al. The UL14 tegument protein of herpes simplex virus type 1 is required for efficient nuclear transport of the alpha transinducing factor VP16 and viral capsids. *J Virol*, 2008, 82: 1094–1106
- 15 Smith G A, Pomeranz L, Gross S P, et al. Local modulation of plus-end transport targets herpesvirus entry and egress in sensory axons. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 16034–16039
- 16 Antinone S E, Smith G A. Retrograde axon transport of herpes simplex virus and pseudorabies virus: a live-cell comparative analysis. *J Virol*, 2010, 84: 1504–1512
- 17 Klupp B G, Granzow H, Mettenleiter T C. Effect of the pseudorabies virus U<sub>S</sub>3 protein on nuclear membrane localization of the U<sub>L</sub>34 protein and virus egress from the nucleus. *J Gen Virol*, 2001, 82: 2363–2371
- 18 Klupp B G, Granzow H, Mundt E, et al. Pseudorabies virus U<sub>L</sub>37 gene product is involved in secondary envelopment. *J Virol*, 2001, 75: 8927–8936
- 19 Mou F, Forest T, Baines J D. U<sub>S</sub>3 of herpes simplex virus type 1 encodes a promiscuous protein kinase that phosphorylates and alters localization of lamin A/C in infected cells. *J Virol*, 2007, 81: 6459–6470
- 20 Reynolds A E, Ryckman B J, Baines J D, et al. U<sub>L</sub>31 and U<sub>L</sub>34 proteins of herpes simplex virus type 1 form a complex that accumulates at the nuclear rim and is required for envelopment of nucleocapsids. *J Virol*, 2001, 75: 8803–8817
- 21 Mou F, Wills E, Baines J D. Phosphorylation of the U<sub>L</sub>31 protein of herpes simplex virus 1 by the U<sub>S</sub>3-encoded kinase regulates localization of the nuclear envelopment complex and egress of nucleocapsids. *J Virol*, 2009, 83: 5181–5191
- 22 Baines J D, Roizman B. The U<sub>L</sub>11 gene of herpes simplex virus 1 encodes a function that facilitates nucleocapsid envelopment and egress from cells. *J Virol*, 1992, 66: 5168–5174
- 23 Mossman K L, Sherburne R, Lavery C, et al. Evidence that herpes simplex virus VP16 is required for viral egress downstream of the initial envelopment event. *J Virol*, 2000, 74: 6287–6299
- 24 Brignati M J, Loomis J S, Wills J W, et al. Membrane association of VP22, a herpes simplex virus type 1 tegument protein. *J Virol*, 2003, 77: 4888–4898
- 25 Nozawa N, Kawaguchi Y, Tanaka M, et al. Herpes simplex virus type 1 UL51 protein is involved in maturation and egress of virus particles. *J Virol*, 2005, 79: 6947–6956
- 26 Desai P, Sexton G L, McCaffery J M, et al. A null mutation in the gene encoding the herpes simplex virus type 1 UL37 polypeptide abrogates virus maturation. *J Virol*, 2001, 75: 10259–10271
- 27 Desai P J. A null mutation in the UL36 gene of herpes simplex virus type 1 results in accumulation of unenveloped DNA-filled capsids in the cytoplasm of infected cells. *J Virol*, 2000, 74: 11608–11618
- 28 Liu Z, Kato A, Shindo K, et al. Herpes simplex virus 1 UL47 interacts with viral nuclear egress factors UL31, UL34, and US3 and regulates viral nuclear egress. *J Virol*, 2014, 88: 4657–4667
- 29 Starkey J L, Han J, Chadha P, et al. Elucidation of the block to herpes simplex virus egress in the absence of tegument protein UL16 reveals a novel interaction with VP22. *J Virol*, 2014, 88: 110–119
- 30 Murphy M A, Bucks M A, O'Regan K J, et al. The HSV-1 tegument protein pUL46 associates with cellular membranes and viral capsids. *Virology*, 2008, 376: 279–289



- 31 Block T, Jordan R, Farkas D H, et al. Inhibition of transient gene expression with plasmids encoding herpes simplex virus type 1 UL55 and alpha genes. *J Gen Virol*, 1991, 72: 131–141
- 32 余娴, 李卫中, 刘龙丁, 等. HSV-1 间层蛋白 VP22 转录调控功能的分析. *中国科学: 生命科学*, 2008, 38: 787–793
- 33 Campbell M E, Palfreyman J W, Preston C M. Identification of herpes simplex virus DNA sequences which encode a trans-acting polypeptide responsible for stimulation of immediate early transcription. *J Mol Biol*, 1984, 180: 1–19
- 34 Pellett P E, McKnight J L, Jenkins F J, et al. Nucleotide sequence and predicted amino acid sequence of a protein encoded in a small herpes simplex virus DNA fragment capable of trans-inducing alpha genes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1985, 82: 5870–5874
- 35 Zhang Y, McKnight J L. Herpes simplex virus type 1 UL46 and UL47 deletion mutants lack VP11 and VP12 or VP13 and VP14, respectively, and exhibit altered viral thymidine kinase expression. *J Virol*, 1993, 67: 1482–1492
- 36 Wagner M J, Smiley J R. Herpes simplex virus requires VP11/12 to activate Src family kinase-phosphoinositide 3-kinase-Akt signaling. *J Virol*, 2011, 85: 2803–2812
- 37 Duffy C, Mbong E F, Baines J D. VP22 of herpes simplex virus 1 promotes protein synthesis at late times in infection and accumulation of a subset of viral mRNAs at early times in infection. *J Virol*, 2009, 83: 1009–1017
- 38 Mbong E F, Woodley L, Frost E, et al. Deletion of UL21 causes a delay in the early stages of the herpes simplex virus 1 replication cycle. *J Virol*, 2012, 86: 7003–7007
- 39 Wang X, Patenode C, Roizman B. US3 protein kinase of HSV-1 cycles between the cytoplasm and nucleus and interacts with programmed cell death protein 4 (PDCD4) to block apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 14632–14636
- 40 Benetti L, Roizman B. In transduced cells, the US3 protein kinase of herpes simplex virus 1 precludes activation and induction of apoptosis by transfected procaspase 3. *J Virol*, 2007, 81: 10242–10248
- 41 Smith M C, Boutell C, Davido D J. HSV-1 ICP0: paving the way for viral replication. *Future Virol*, 2011, 6: 421–429
- 42 Poon A P, Gu H, Roizman B. ICP0 and the US3 protein kinase of herpes simplex virus 1 independently block histone deacetylation to enable gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 9993–9998
- 43 Lium E K, Panagiotidis C A, Wen X, et al. Repression of the  $\alpha 0$  gene by ICP4 during a productive herpes simplex virus infection. *J Virol*, 1996, 70: 3488–3496
- 44 Liu X, Fitzgerald K, Kurt-Jones E, et al. Herpesvirus tegument protein activates NF- $\kappa$ B signaling through the TRAF6 adaptor protein. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 11335–11339
- 45 Wang S, Wang K, Li J, et al. Herpes simplex virus 1 ubiquitin-specific protease UL36 inhibits beta interferon production by deubiquitinating TRAF3. *J Virol*, 2013, 87: 11851–11860
- 46 Liang L, Roizman B. Expression of gamma interferon-dependent genes is blocked independently by virion host shutoff RNase and by US3 protein kinase. *J Virol*, 2008, 82: 4688–4696
- 47 Shibaki T, Suzutani T, Yoshida I, et al. Participation of type I interferon in the decreased virulence of the UL13 gene-deleted mutant of herpes simplex virus type 1. *J Interferon Cytokine Res*, 2001, 21: 279–285
- 48 Cohen J I. The varicella-zoster virus genome. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2010, 342: 1–14
- 49 Nagaike K, Mori Y, Gomi Y, et al. Cloning of the varicella-zoster virus genome as an infectious bacterial artificial chromosome in *Escherichia coli*. *Vaccine*, 2004, 22: 4069–4074
- 50 Zhang Z, Rowe J, Wang W, et al. Genetic analysis of varicella-zoster virus ORF0 to ORF4 by use of a novel luciferase bacterial artificial chromosome system. *J Virol*, 2007, 81: 9024–9033
- 51 Zerboni L, Sen N, Oliver S L, et al. Molecular mechanisms of varicella zoster virus pathogenesis. *Nat Rev Microbiol*, 2014, 12: 197–210
- 52 Kinchington P R, Bookey D, Turse S E. The transcriptional regulatory proteins encoded by varicella-zoster virus open reading frames (ORFs) 4 and 63, but not ORF 61, are associated with purified virus particles. *J Virol*, 1995, 69: 4274–4282
- 53 Kinchington P R, Hougland J K, Arvin A M, et al. The varicella-zoster virus immediate-early protein IE62 is a major component of virus particles. *J Virol*, 1992, 66: 359–366
- 54 Defechereux P, Melen L, Baudoux L, et al. Characterization of the regulatory functions of varicella-zoster virus open reading frame 4 gene product. *J Virol*, 1993, 67: 4379–4385
- 55 Moriuchi H, Moriuchi M, Smith H A, et al. Varicella-zoster virus open reading frame 4 protein is functionally distinct from and does not complement its herpes simplex virus type 1 homolog, ICP27. *J Virol*, 1994, 68: 1987–1992
- 56 Perera L P, Mosca J D, Sadeghi-Zadeh M, et al. The varicella-zoster virus immediate early protein, IE62, can positively regulate its cognate promoter. *Virology*, 1992, 191: 346–354
- 57 Sato B, Ito H, Hinchliffe S, et al. Mutational analysis of open reading frames 62 and 71, encoding the varicella-zoster virus immediate-early transactivating protein, IE62, and effects on replication *in vitro* and in skin xenografts in the SCID-hu mouse *in vivo*. *J Virol*, 2003, 77:

5607–5620

- 58 Sato B, Sommer M, Ito H, et al. Requirement of varicella-zoster virus immediate-early 4 protein for viral replication. *J Virol*, 2003, 77: 12369–12372
- 59 Hoover S E, Cohrs R J, Rangel Z G, et al. Downregulation of varicella-zoster virus (VZV) immediate-early ORF62 transcription by VZV ORF63 correlates with virus replication *in vitro* and with latency. *J Virol*, 2006, 80: 3459–3468
- 60 Sen N, Sommer M, Che X, et al. Varicella-zoster virus immediate-early protein 62 blocks interferon regulatory factor 3 (IRF3) phosphorylation at key serine residues: a novel mechanism of IRF3 inhibition among herpesviruses. *J Virol*, 2010, 84: 9240–9253
- 61 Ambagala A P, Cohen J I. Varicella-zoster virus IE63, a major viral latency protein, is required to inhibit the alpha interferon-induced antiviral response. *J Virol*, 2007, 81: 7844–7851
- 62 Debrus S, Sadzot-Delvaux C, Nikkels A F, et al. Varicella-zoster virus gene 63 encodes an immediate-early protein that is abundantly expressed during latency. *J Virol*, 1995, 69: 3240–3245
- 63 Kennedy P G, Grinfeld E, Bell J E. Varicella-zoster virus gene expression in latently infected and explanted human ganglia. *J Virol*, 2000, 74: 11893–11898
- 64 Lungu O, Panagiotidis C A, Annunziato P W, et al. Aberrant intracellular localization of varicella-zoster virus regulatory proteins during latency. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 7080–7085
- 65 Cohen J I, Cox E, Pesnicak L, et al. The varicella-zoster virus open reading frame 63 latency-associated protein is critical for establishment of latency. *J Virol*, 2004, 78: 11833–11840
- 66 Cohen J I, Krogmann T, Ross J P, et al. Varicella-zoster virus ORF4 latency-associated protein is important for establishment of latency. *J Virol*, 2005, 79: 6969–6975
- 67 Zhang Z, Selariu A, Warden C, et al. Genome-wide mutagenesis reveals that ORF7 is a novel VZV skin-tropic factor. *PLoS Pathog*, 2010, 6: e1000971
- 68 Sommer M H, Zagha E, Serrano O K, et al. Mutational analysis of the repeated open reading frames, ORFs 63 and 70 and ORFs 64 and 69, of varicella-zoster virus. *J Virol*, 2001, 75: 8224–8239
- 69 Gomi Y, Imagawa T, Takahashi M, et al. Comparison of DNA sequence and transactivation activity of open reading frame 62 of Oka varicella vaccine and its parental viruses. *Arch Virol Suppl*, 2001, 17: 49–56
- 70 Cohrs R J, Gilden D H, Gomi Y, et al. Comparison of virus transcription during lytic infection of the Oka parental and vaccine strains of varicella-zoster virus. *J Virol*, 2006, 80: 2076–2082
- 71 Argaw T, Cohen J I, Klutch M, et al. Nucleotide sequences that distinguish Oka vaccine from parental Oka and other varicella-zoster virus isolates. *J Infect Dis*, 2000, 181: 1153–1157
- 72 Gomi Y, Imagawa T, Takahashi M, et al. Oka varicella vaccine is distinguishable from its parental virus in DNA sequence of open reading frame 62 and its transactivation activity. *J Med Virol*, 2000, 61: 497–503
- 73 Baiker A, Bagowski C, Ito H, et al. The immediate-early 63 protein of varicella-zoster virus: analysis of functional domains required for replication *in vitro* and for T-cell and skin tropism in the SCIDhu model *in vivo*. *J Virol*, 2004, 78: 1181–1194
- 74 Che X, Reichelt M, Sommer M H, et al. Functions of the ORF9-to-ORF12 gene cluster in varicella-zoster virus replication and in the pathogenesis of skin infection. *J Virol*, 2008, 82: 5825–5834
- 75 Loret S, Guay G, Lippe R. Comprehensive characterization of extracellular herpes simplex virus type 1 virions. *J Virol*, 2008, 82: 8605–8618
- 76 Che X, Oliver S L, Sommer M H, et al. Identification and functional characterization of the varicella zoster virus ORF11 gene product. *Virology*, 2011, 412: 156–166
- 77 Liu X, Li Q, Dowdell K, et al. Varicella-Zoster virus ORF12 protein triggers phosphorylation of ERK1/2 and inhibits apoptosis. *J Virol*, 2012, 86: 3143–3151
- 78 Cohrs R J, Hurley M P, Gilden D H. Array analysis of viral gene transcription during lytic infection of cells in tissue culture with Varicella-Zoster virus. *J Virol*, 2003, 77: 11718–11732
- 79 Kennedy P G, Grinfeld E, Craigon M, et al. Transcriptomal analysis of varicella-zoster virus infection using long oligonucleotide-based microarrays. *J Gen Virol*, 2005, 86: 2673–2684
- 80 Duffy C, Lavail J H, Tauscher A N, et al. Characterization of a UL49-null mutant: VP22 of herpes simplex virus type 1 facilitates viral spread in cultured cells and the mouse cornea. *J Virol*, 2006, 80: 8664–8675
- 81 Elliott G, Hafezi W, Whiteley A, et al. Deletion of the herpes simplex virus VP22-encoding gene (UL49) alters the expression, localization, and virion incorporation of ICP0. *J Virol*, 2005, 79: 9735–9745
- 82 Cilloniz C, Jackson W, Grose C, et al. The varicella-zoster virus (VZV) ORF9 protein interacts with the IE62 major VZV transactivator. *J*

- Viol, 2007, 81: 761–774
- 83 Riva L, Thiry M, Bontems S, et al. ORF9p phosphorylation by ORF47p is crucial for the formation and egress of varicella-zoster virus viral particles. *J Virol*, 2013, 87: 2868–2881
- 84 Riva L, Thiry M, Lebrun M, et al. Deletion of the ORF9p acidic cluster impairs the nuclear egress of varicella-zoster virus capsids. *J Virol*, 2014, 89: 2436–2441
- 85 Moriuchi H, Moriuchi M, Cohen J I. Proteins and *cis*-acting elements associated with transactivation of the varicella-zoster virus (VZV) immediate-early gene 62 promoter by VZV open reading frame 10 protein. *J Virol*, 1995, 69: 4693–4701
- 86 Moriuchi H, Moriuchi M, Straus S E, et al. Varicella-zoster virus open reading frame 10 protein, the herpes simplex virus VP16 homolog, transactivates herpesvirus immediate-early gene promoters. *J Virol*, 1993, 67: 2739–2746
- 87 Che X, Zerboni L, Sommer M H, et al. Varicella-zoster virus open reading frame 10 is a virulence determinant in skin cells but not in T cells *in vivo*. *J Virol*, 2006, 80: 3238–3248
- 88 Che X, Berarducci B, Sommer M, et al. The ubiquitous cellular transcriptional factor USF targets the varicella-zoster virus open reading frame 10 promoter and determines virulence in human skin xenografts in SCIDhu mice *in vivo*. *J Virol*, 2007, 81: 3229–3239
- 89 Che X, Oliver S L, Reichelt M, et al. ORF11 protein interacts with the ORF9 essential tegument protein in varicella-zoster virus infection. *J Virol*, 2013, 87: 5106–5117
- 90 Liu X, Cohen J I. Varicella-zoster virus ORF12 protein activates the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway to regulate cell cycle progression. *J Virol*, 2013, 87: 1842–1848
- 91 Gershburg E, Pagano J S. Conserved herpesvirus protein kinases. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1784: 203–212
- 92 Stevenson D, Colman K L, Davison A J. Characterization of the putative protein kinases specified by varicella-zoster virus genes 47 and 66. *J Gen Virol*, 1994, 75: 317–326
- 93 Kinchington P R, Fite K, Seman A, et al. Virion association of IE62, the varicella-zoster virus (VZV) major transcriptional regulatory protein, requires expression of the VZV open reading frame 66 protein kinase. *J Virol*, 2001, 75: 9106–9113
- 94 Moffat J F, Zerboni L, Sommer M H, et al. The ORF47 and ORF66 putative protein kinases of varicella-zoster virus determine tropism for human T cells and skin in the SCID-hu mouse. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 11969–11974
- 95 Heineman T C, Cohen J I. The varicella-zoster virus (VZV) open reading frame 47 (ORF47) protein kinase is dispensable for viral replication and is not required for phosphorylation of ORF63 protein, the VZV homolog of herpes simplex virus ICP22. *J Virol*, 1995, 69: 7367–7370
- 96 Heineman T C, Seidel K, Cohen J I. The varicella-zoster virus ORF66 protein induces kinase activity and is dispensable for viral replication. *J Virol*, 1996, 70: 7312–7317
- 97 Besser J, Sommer M H, Zerboni L, et al. Differentiation of varicella-zoster virus ORF47 protein kinase and IE62 protein binding domains and their contributions to replication in human skin xenografts in the SCID-hu mouse. *J Virol*, 2003, 77: 5964–5974
- 98 Schaap-Nutt A, Sommer M, Che X, et al. ORF66 protein kinase function is required for T-cell tropism of varicella-zoster virus *in vivo*. *J Virol*, 2006, 80: 11806–11816
- 99 Kenyon T K, Lynch J, Hay J, et al. Varicella-zoster virus ORF47 protein serine kinase: characterization of a cloned, biologically active phosphotransferase and two viral substrates, ORF62 and ORF63. *J Virol*, 2001, 75: 8854–8858
- 100 Besser J, Ikoma M, Fabel K, et al. Differential requirement for cell fusion and virion formation in the pathogenesis of varicella-zoster virus infection in skin and T cells. *J Virol*, 2004, 78: 13293–13305
- 101 Kenyon T K, Cohen J I, Grose C. Phosphorylation by the varicella-zoster virus ORF47 protein serine kinase determines whether endocytosed viral gE traffics to the trans-Golgi network or recycles to the cell membrane. *J Virol*, 2002, 76: 10980–10993
- 102 Vandevenne P, Lebrun M, El Mjiyad N, et al. The varicella-zoster virus ORF47 kinase interferes with host innate immune response by inhibiting the activation of IRF3. *PLoS One*, 2011, 6: e16870
- 103 Eissfeldt A J, Turse S E, Jackson S A, et al. Phosphorylation of the varicella-zoster virus (VZV) major transcriptional regulatory protein IE62 by the VZV open reading frame 66 protein kinase. *J Virol*, 2006, 80: 1710–1723
- 104 Kinchington P R, Turse S E. Regulated nuclear localization of the varicella-zoster virus major regulatory protein, IE62. *J Infect Dis*, 1998, 178: S16–S21
- 105 Cohrs R J, Gilden D H, Kinchington P R, et al. Varicella-zoster virus gene 66 transcription and translation in latently infected human ganglia. *J Virol*, 2003, 77: 6660–6665
- 106 Eissfeldt A J, Yee M B, Erazo A, et al. Downregulation of class I major histocompatibility complex surface expression by varicella-zoster virus involves open reading frame 66 protein kinase-dependent and -independent mechanisms. *J Virol*, 2007, 81: 9034–9049
- 107 Selariu A, Cheng T, Tang Q, et al. ORF7 of varicella-zoster virus is a neurotropic factor. *J Virol*, 2012, 86: 8614–8624

- 108 Grigoryan S, Kinchington P R, Yang I H, et al. Retrograde axonal transport of VZV: kinetic studies in hESC-derived neurons. *J Neurovirol*, 2012, 18: 462–470
- 109 Sadaoka T, Yoshii H, Imazawa T, et al. Deletion in open reading frame 49 of varicella-zoster virus reduces virus growth in human malignant melanoma cells but not in human embryonic fibroblasts. *J Virol*, 2007, 81: 12654–12665
- 110 Sadaoka T, Serada S, Kato J, et al. Varicella-zoster virus ORF49 functions in the efficient production of progeny virus through its interaction with essential tegument protein ORF44. *J Virol*, 2014, 88: 188–201
- 111 Sato H, Callanan L D, Pesnicak L, et al. Varicella-zoster virus (VZV) ORF17 protein induces RNA cleavage and is critical for replication of VZV at 37 degrees C but not 33 degrees C. *J Virol*, 2002, 76: 11012–11023
- 112 Uetz P, Dong Y A, Zeretzke C, et al. Herpesviral protein networks and their interaction with the human proteome. *Science*, 2006, 311: 239–242
- 113 Stellberger T, Hauser R, Baiker A, et al. Improving the yeast two-hybrid system with permutated fusions proteins: the varicella zoster virus interactome. *Proteome Sci*, 2010, 8: 8
- 114 Bohannon K P, Jun Y, Gross S P, et al. Differential protein partitioning within the herpesvirus tegument and envelope underlies a complex and variable virion architecture. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: E1613–E1620
- 115 Zhou Z H, Chen D H, Jakana J, et al. Visualization of tegument-capsid interactions and DNA in intact herpes simplex virus type 1 virions. *J Virol*, 1999, 73: 3210–3218
- 116 Cardone G, Newcomb W W, Cheng N, et al. The UL36 tegument protein of herpes simplex virus 1 has a composite binding site at the capsid vertices. *J Virol*, 2012, 86: 4058–4064
- 117 Zhou Z H, Dougherty M, Jakana J, et al. Seeing the herpesvirus capsid at 8.5 Å. *Science*, 2000, 288: 877–880
- 118 Grunewald K, Desai P, Winkler D C, et al. Three-dimensional structure of herpes simplex virus from cryo-electron tomography. *Science*, 2003, 302: 1396–1398
- 119 Guo H, Shen S, Wang L, et al. Role of tegument proteins in herpesvirus assembly and egress. *Protein Cell*, 2010, 1: 987–998
- 120 Mettenleiter T C. Herpesvirus assembly and egress. *J Virol*, 2002, 76: 1537–1547
- 121 Meckes D G Jr, Wills J W. Dynamic interactions of the UL16 tegument protein with the capsid of herpes simplex virus. *J Virol*, 2007, 81: 13028–13036
- 122 Loomis J S, Courtney R J, Wills J W. Packaging determinants in the UL11 tegument protein of herpes simplex virus type 1. *J Virol*, 2006, 80: 10534–10541
- 123 Klupp B G, Fuchs W, Granzow H, et al. Pseudorabies virus UL36 tegument protein physically interacts with the UL37 protein. *J Virol*, 2002, 76: 3065–3071
- 124 Han J, Chadha P, Starkey J L, et al. Function of glycoprotein e of herpes simplex virus requires coordinated assembly of three tegument proteins on its cytoplasmic tail. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 19798–19803
- 125 Galea S A, Sweet A, Beninger P, et al. The safety profile of varicella vaccine: a 10-year review. *J Infect Dis*, 2008, 197: S165–S169
- 126 Elliott G, O'Hare P. Herpes simplex virus type 1 tegument protein VP22 induces the stabilization and hyperacetylation of microtubules. *J Virol*, 1998, 72: 6448–6455
- 127 Ohta A, Yamauchi Y, Muto Y, et al. Herpes simplex virus type 1 UL14 tegument protein regulates intracellular compartmentalization of major tegument protein VP16. *Virol J*, 2011, 8: 365
- 128 Tanaka M, Sata T, Kawaguchi Y. The product of the herpes simplex virus 1 UL7 gene interacts with a mitochondrial protein, adenine nucleotide translocator 2. *Virol J*, 2008, 5: 125
- 129 Walters M S, Kyratsous C A, Silverstein S J. The RING finger domain of Varicella-Zoster virus ORF61p has E3 ubiquitin ligase activity that is essential for efficient autoubiquitination and dispersion of Sp100-containing nuclear bodies. *J Virol*, 2010, 84: 6861–6865
- 130 Zhu H, Zheng C, Xing J, et al. Varicella-zoster virus immediate-early protein ORF61 abrogates the IRF3-mediated innate immune response through degradation of activated IRF3. *J Virol*, 2011, 85: 11079–11089
- 131 Sloan E, Henriquez R, Kinchington P R, et al. Varicella-zoster virus inhibition of the NF-κB pathway during infection of human dendritic cells: role for open reading frame 61 as a modulator of NF-κB activity. *J Virol*, 2012, 86: 1193–1202
- 132 Jacob T, Van den Broeke C, van Troys M, et al. Alphaherpesviral US3 kinase induces cofilin dephosphorylation to reorganize the actin cytoskeleton. *J Virol*, 2013, 87: 4121–4126
- 133 Van den Broeke C, Radu M, Deruelle M, et al. Alphaherpesvirus US3-mediated reorganization of the actin cytoskeleton is mediated by group A p21-activated kinases. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 8707–8712